

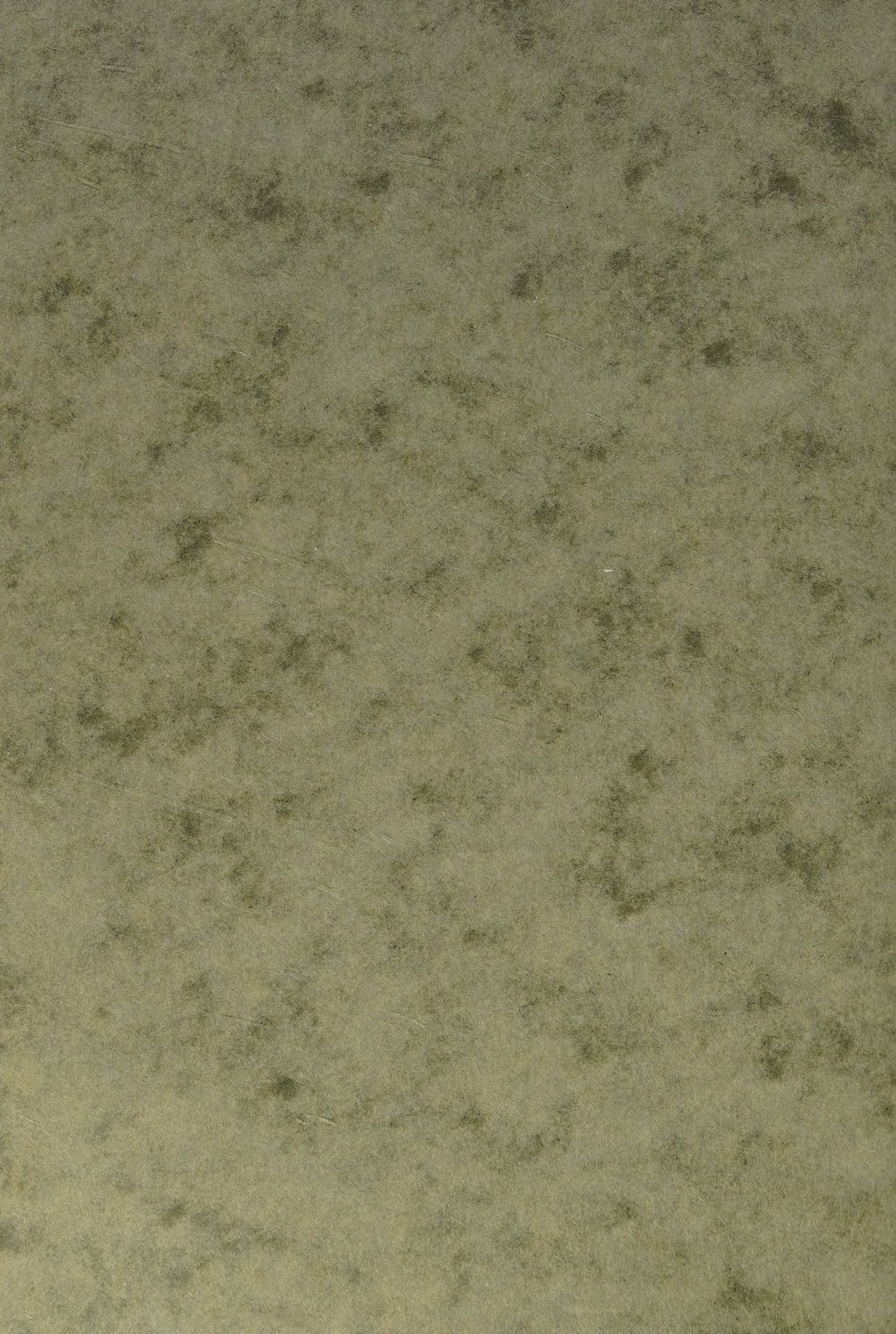
Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

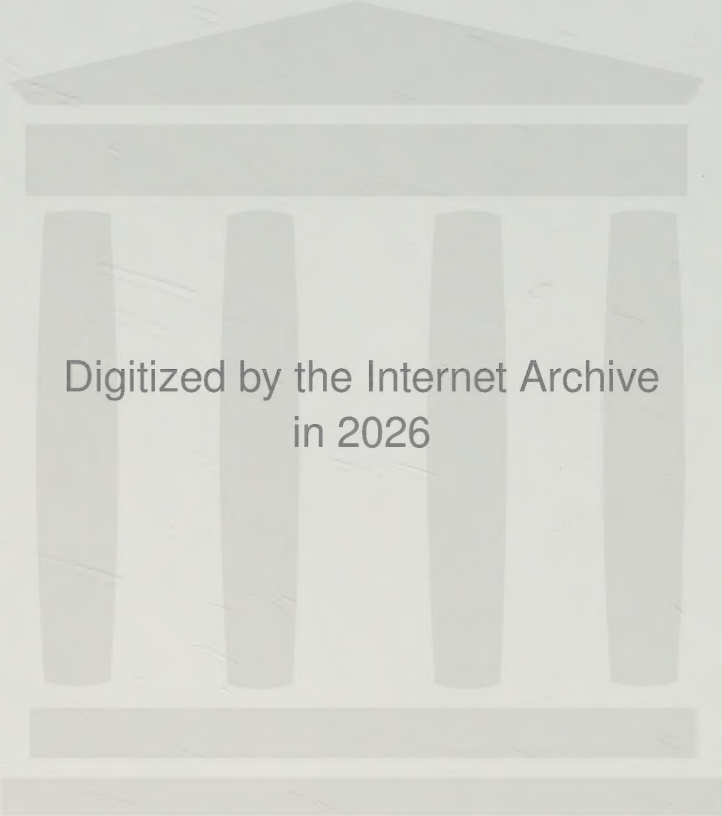
UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNGSWEISE VON FUROSEMID
AN DER ISOLIERTEN DICKDARMSCHLEIMHAUT DER RATTE

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Jörg SCHMITZ
aus Nastätten

Mainz, 1981





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552617_0019

Aus der I. Medizinischen Klinik und Poliklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNGSWEISE VON FUROSEMID
AN DER ISOLIERTEN DICKDARMSCHLEIMHAUT DER RATTE

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Jörg SCHMITZ
aus Nastätten

Mainz, 1981



Dekan:

Professor Dr. med. K.-H. Bäßler

1. Gutachter:

Professor Dr. med. R. Wanitschke

2. Gutachter:

Professor Dr. med. K. Ewe

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Oktober 1981

Für meine Eltern

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
I. Einleitung	1
II. Material und Methodik	4
Wasser- und Elektrolytbewegung	4
Formelangaben und Legende	7
Adenosintriphosphatase	8
Zyklisches Adenosinmonophosphat	10
Statistische Auswertung	13
III. Ergebnisse	14
Wasser- und Elektrolytbewegung	14
Adenosintriphosphatase	20
Zyklisches Adenosinmonophosphat	21
IV. Diskussion	23
V. Zusammenfassung	28
VI. Literaturverzeichnis	29

I. E I N L E I T U N G

Als man im Jahre 1949 die diuretische Wirkung des Sulfanilamid (Prontosil album^R) entdeckte, begann in der Ödemtherapie ein neuer Zeitabschnitt (Fried, 1961). Die weitere Forschung führte über das Acetazolamid und die sog. Disulfonamide zur Entwicklung der Thiazide. Eine nochmalige Steigerung der Natriumelimination wurde, ausgehend von den Benzosulfonamidpräparaten, mit dem Anthranilsäurederivat Furosemid (4-Chlor-N-(2-furylmethyl)-5-sulfamoyl-anthranilsäure) erreicht (Abb. 1).

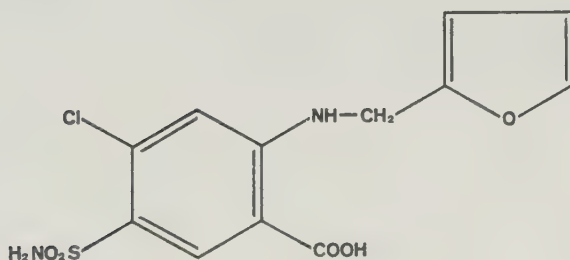


Abb. 1: Furosemid (Lasix^R der Hoechst AG., Frankfurt)

Die von Sturm, Siedel und Weyer (1966) synthetisierte Verbindung führt unabhängig von den Verhältnissen im Säure-Basen-Haushalt zu einer starken Natriurese und Diurese (Hook u. Williamson, 1965; Cooperman u. Rubin, 1973). In der Regel werden plasmaisotone Harnvolumina ausgeschieden (Heid-

land et al., 1964; Heidenreich, 1977). Der Effekt tritt sehr schnell ein und geht rasch vorüber (Mudge, 1975).

Als schwache organische Säure wird Furosemid aktiv in den proximalen Nierentubulus sezerniert (Deetjen, 1965). Es wirkt von der luminalen Zelloberfläche durch Hemmung der renalen Chlorid- und Natriumrückresorption, vornehmlich am dicken Teil des aufsteigenden Astes der Henleschen Schleife (Buchborn u. Anastasakis, 1964; Suzuki et al., 1964; Malnic et al., 1965; Morgan et al., 1970; Burg et al., 1973; Al-Awquati, 1974; Williamson, 1977). Dabei werden bis zu 40 % des glomerulär filtrierte Natriums ausgeschieden. Die Nierendurchblutung steigt bei unveränderter Filtrationsrate bis zu 30 % an (Heidenreich, 1977). Carboanhydrase, antidiuretisches Hormon oder Aldosteron werden nicht beeinflusst (Molina et al., 1972).

Nach Einführung in die Therapie traten als unerwünschte Wirkung in seltenen Fällen Durchfälle auf (Kleinfelder, 1963; Cooperman u. Rubin, 1973; Kennedy, 1974).

Da Furosemid ein Inhibitor renaler Transportmechanismen ist (Ferguson u. Twite, 1974), ist es möglich, daß auch intestinale Transferprozesse in gleicher Weise beeinflusst werden. Hiermit wäre eine Erklärung für die Diarrhöen nach Gabe hoher Dosen gefunden (MacKenzie et al., 1975).

Die genaueren Vorgänge beim Natriumtransport durch biologische Membranen sind noch nicht vollständig aufgeklärt. Einige Autoren fordern an der Niere seine zumindest teilweise Abhängigkeit von einer Adenosintriphosphatase (Katz u. Epstein, 1967). Auf der anderen Seite bleibt dieses Enzymsystem jedoch von zahlreichen Hemmstoffen der tubulären Elektrolytrückresorption unbeeinflusst (Duggan u. Noll, 1965;

Nechay u. Nelson, 1970; Ebel et al., 1972). Aus diesem Grunde wurde eine Mitwirkung anderer aktiver Mechanismen wie z. B. des Adenylzyklase-Systems bei der Regulierung von Ionenbewegungen vorgeschlagen (Sutherland et al., 1968; Ebel, 1974; Fülgraff u. Meiforth, 1974; Ferguson u. Twite, 1975).

In der vorliegenden Arbeit werden die bereits experimentell belegten Zusammenhänge wegen des aus resorptiver Sicht ähnlichen Verhaltens von renalem Tubulusepithel und intestinaler Mukosa (Binder et al., 1966; Robinson u. Förster, 1968; Caspary, 1975; Forth u. Rummel, 1975) unter dem Einfluß von Furosemid am Dickdarm der Ratte untersucht.

II. MATERIAL UND METHODIK

Wasser- und Elektrolytbewegung

Als Versuchstiere dienten männliche Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht zwischen 150 und 400 g. Sie hatten freien Zugang zu Trockenfutter (Altromin^R, Fa. Altrogge, Lage) und Leitungswasser bis Versuchsbeginn.

Nach Äthernarkose wurde das Colon entfernt und in eiskalter, begaster plasmaisotoner Elektrolytlösung gespült. Präparation und Versuchsvorrichtung entsprachen der von Parsons und Paterson beschriebenen "everted sac"-Methode (1960, 1965). Abweichend hiervon wurden die Serosa sowie die äußeren Schichten glatter Muskulatur von einer zirkulären Inzision aus abgestreift (Wanitschke et al., in Vorbereitung). Der Mukosalschlauch wurde gewendet, an einem Ende ligiert und mit dem anderen an einem graduierten Glasrohr befestigt. Anschließend wurde das Colonsäckchen in 50 ml, auf 37° C temperiertes Inkubationsmedium überführt (Abb. 2). Der pH-Wert der mit 95 % O₂ und 5 % CO₂ (Carbogen) durchperlten Lösung lag bei 7,4. In das Innere des Präparates, die sog. serosale Seite, wurde die gleiche plasmaisotone Elektrolytlösung unter Vermeidung hydrostatischer Druckdifferenzen zur Außenlösung gefüllt (Wanitschke et al., 1977).

Die Basislösung hatte folgende Zusammensetzung (in mM/l): NaCl 112, KCl 4,5, NaHCO₃ 25, Glukose 12,2, Osmolarität 280 mosm/l. Zusätzlich enthielt die serosale Flüssigkeit Polyäthylen-1, 2-¹⁴C-glykol (¹⁴C-PÄG, Molekulargewicht 4000, spezifische Aktivität 0,38 mCi/g PÄG, New England Nuclear, Boston) als Volumenmarker (Jacobson et al., 1963; Shields et al., 1968; Wingate et al., 1972) und 5 g/l PÄG 4000 (Serva Feinbiochemica, Heidelberg).

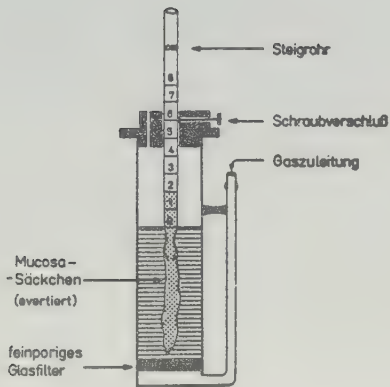


Abb. 2: Versuchsanordnung

Die Furosemid-Verdünnungen wurden aus Lasix^R-Injektionsampullen* unter Zusatz von Standardlösung bereitet. Die Applikation des Medikamentes erfolgte in der Regel auf der mukosalen Seite des Darmes, in zwei Versuchsreihen auch auf der Serosaseite.

Nach zweistündiger Inkubation wurde der Inhalt des Colon-säckchens aufgefangen und 10 min bei 3600 rpm zentrifugiert. Die Messung der Elektrolytkonzentration sowie der ¹⁴C-PÄG-Aktivität erfolgte im Überstand. Zur Bestimmung des fettfreien Trockengewichtes wurde die Schleimhaut über Nacht in Äther aufbewahrt und anschließend bis zur Gewichtskonstanz bei 60° C gelagert.

*An dieser Stelle sei der Hoechst AG., Frankfurt für die großzügige Überlassung der benötigten Mengen gedankt.

Natrium wurde flammenphotometrisch (Flammenphotometer im Analysengeräte, Geräte-Type 450, Fernwald-Annerod), Chlorid titrimetrisch (Chloridmeter Eppendorf, Hamburg), die Osmolalität durch Gefrierpunktserniedrigung (Osmometer Knauer, Oberursel) ermittelt. Die Aktivität des mit ^{14}C markierten PAG wurde im Szintillationszähler (Flüssigszintillationspektrometer Betaszint BF 5000, berthold, Wildbad) gemessen. Als Szintillationsflüssigkeit diente Instagel (Packard Instruments-Company, Illinois, U.S.A.). Verfärbungen der Lösungen wurden mit einer Quenchkurve korrigiert.

Formelangaben und Legende

Die Nettobewegungen ergaben sich wie folgt

$$\text{für Wasser: } J_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{net}} = \text{Vol}_{\text{SA}} \times \left(\frac{[\text{PAG}_{\text{SA}}]}{[\text{PAG}_{\text{SE}}]} - 1 \right) / t \times \text{T. G.}$$

$$\text{für Ionen: } J_{\text{ion}}^{\text{net}} = \left[I_{\text{SE}} \right] \times \text{Vol}_{\text{SE}} - \left[I_{\text{SA}} \right] \times \text{Vol}_{\text{SA}} / t \times \text{T. G.}$$

Positive Werte geben Nettobewegungen von der Mukosa zur Serosa an, d. h. Absorption, negative eine solche in die Gegenrichtung, d. h. Sekretion.

Dabei bedeuten:

$$J_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{net}} = \text{Netto-Wasser-Transfer (ml/g x h)}$$

$$J_{\text{ion}}^{\text{net}} = \text{Konzentrationsanstieg oder -abnahme des entsprechenden Ions auf der serosalen Seite (\mu\text{val/g x h})}$$

$$\text{Vol}_{\text{SA}} = \text{Inhalt des serosalen Kompartimentes zu Versuchsbeginn (ml)}$$

$$\text{Vol}_{\text{SE}} = \text{Inhalt des serosalen Kompartimentes am Versuchsende (ml)}$$

$$[\text{PAG}_{\text{SA}}] = \text{Anfangsaktivität von } ^{14}\text{C-PAG in der serosalen Flüssigkeit (cpm/ml)}$$

$$[\text{PAG}_{\text{SE}}] = \text{Endaktivität von } ^{14}\text{C-PAG in der serosalen Flüssigkeit (cpm/ml)}$$

$$[I_{\text{SA}}] = \text{Anfangskonzentration des entsprechenden Ions auf der Serosaseite (mval/l)}$$

$$[I_{\text{SE}}] = \text{Endkonzentration des entsprechenden Ions auf der Serosaseite (mval/l)}$$

$$t = \text{Versuchsdauer (h)}$$

$$\text{T. G.} = \text{fettfreies Trockengewicht (g)}$$

Adenosintriphosphatase

Die Aktivitätsbestimmung der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -aktivierbaren Adenosintriphosphatase (NaK-ATPase) erfolgte nach einem von Loeschke und Mitarbeitern (1974) modifizierten Verfahren.

Hierzu wurde das Dickdarmsäckchen nach zweistündiger Inkubation eröffnet und mit Filterpapier abgetupft. Die Schleimhaut wurde mit einem Deckgläschen abgeschabt und in die etwa zehnfache Menge eines eisgekühlten Isolationsmediums (250 mM/l Saccharose, 10 mM/l Triäthanolamin-HCl, 5 mM/l Äthylendiaminacetat, pH 7,45) gebracht. Unter weiterer Kühlung erfolgte die Homogenisation des Materials (Potter-Homogenisator, Braun, Melsungen).

Die Enzymaktivitäten wurden als Durchschnittswerte von Dreifachbestimmungen in gleichen Homogenatmengen ermittelt. Soweit erforderlich, wurde das Gemisch mit Tris-Puffer (75 mM/l, pH 7,6, 20° C) verdünnt. Die Aktivitäten der Mg-ATPase und der NaK-ATPase wurden in vier verschiedenen Ansätzen gemessen (Tab. 1): eine Bestimmung erfolgte in der Gegenwart von Magnesium (Medium I), eine mit Magnesium und Ouabain (II), eine mit Magnesium, Natrium und Kalium (III) und eine in der Gegenwart von Magnesium, Natrium, Kalium und Ouabain (IV).

Tabelle 1: Versuchsansatz
(Erläuterung s. Text)

	Mg^{++}	Na^+	K^+	Ouabain
	mM/l			
I	6	-	-	-
II	6	-	-	2
III	6	100	20	-
IV	6	100	20	2

Als Substrat wurde allen Ansätzen Adenosin-5'-triphosphat (3,7 mM/l) zugesetzt.

Die NaK-ATPase wurde definiert als Differenz zwischen dem Mittelwert der Aktivitäten in den Ansätzen I, II und IV (= Mg-ATPase) und der aus dem Ansatz III (= Mg-NaK-ATPase).

Nach dreißigminütiger Inkubation bei 37° C wurden die Reaktionsabläufe durch eineinhalbminütiges Abkochen im Wasserbad bei 100° C unterbrochen. Anschließend wurden die Ansätze 2 min zentrifugiert (Eppendorf-Zentrifuge).

Zur Bestimmung des anorganischen Phosphats wurde der Überstand mit Phosphatreagenz (50,4 mg Ammoniumheptamolybdat in 6 ml 2 N H₂SO₄ + 200 mg Ascorbinsäure in 1 ml Aqua bidest.) im Eisbad gemischt und 7 min bei 60° C inkubiert. Nach Abkühlung wurde die Extinktion am gleichen Tag bei 830 nm gegen Leerwert gemessen (Eppendorf-Photometer, Eppendorf Gerätebau, Netheler + Hinz GmbH, Hamburg) und die Phosphatkonzentration einer Eichkurve entnommen (Fiske u. Subarrow, 1925).

Der Eiweißgehalt im Homogenat wurde nach der Methode von Sedmak und Grossberg (1977) mit Coomassiebrilliantblau (Coomassie-Brilliant-Blue G 250, Chroma-Gesellschaft, Schmid GmbH & Co., Stuttgart) bestimmt. Bei der Erstellung der Eichkurve diente Rinderalbumin (Serum-Albumin vom Rind, trocken, reinst, Behringwerke, Marburg) als Vergleichssubstanz.

Zyklisches Adenosinmonophosphat

Der Gehalt an zyklischem 3',5'-Adenosinmonophosphat (cAMP) im Mukosagewebe wurde mit einem Radioimmunoassay bestimmt.

Zuvor wurden die zyklischen Nukleotide chromatographisch aufgetrennt und gereinigt. Die Methode ist bei Schultz et al. (1974) detailliert beschrieben. Hier werden nur die davon abweichenden Verfahrensschritte ausführlicher dargestellt.

Die Aufbereitung des Ionenaustauscherharzes QAE-Sephadex A 25 (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden) erfolgte in der von Schultz angegebenen Weise.

Zusätzlich wurde als Kationenaustauscher SP-Sephadex C 25 (Pharmacia Fine Chemicals) verwendet (Schultz, persönl. Mitteilung). Dieses Kunstharz wurde in der Na^+ -Form bezogen und mußte in die H^+ -Form umgewandelt werden. Dazu wurde das SP-Sephadex nach Aufquellen in destilliertem Wasser in eine große, mit einem feinporigen Glasfilter am Boden versehene Glassäule (Sarstedt-Säule) gefüllt. Nun wurde mit 0,2 N NaOH gespült, bis der pH-Wert im Eluat bei ca. 13 lag. Es folgte Aqua dest. bis zu einem Wasserstoffexponenten um 9. Hierauf wurde so lange 0,2 N HCl nachgefüllt, daß pH-Konstanz (ca. 0,65) im Eluat erreicht war. Der nächste Schritt bestand in der Zugabe von Aqua dest., bis der Chloridnachweis (AgNO_3 -Probe) im Eluat negativ war. Zuletzt wurde das SP-Sephadex mit 70 %igem Alkohol gewaschen und in Trichter-Röhrchen (Art.-Nr. 102/2, W. Sarstedt, Nümbrecht-Rommelsdorf) übertragen, welche am unteren Ende mit Quarzwolle gegen Sephadex-Verlust abgedichtet waren.

Die Gewebeproben waren nach zweistündiger Inkubation eröffnet, mit Filterpapier abgetupft, in flüssigem Stickstoff konserviert und tiefgefroren gelagert worden. Sie wurden unter Zugabe von 4 ml 50 %igem Äthanol, 200 μl 1 M Zinkacetat und 0,01 ml ^3H -cAMP (6000 cpm) im Eisbad homogenisiert (Schultz et al., 1973). Nach Zentrifugation über 10 min bei 10 000 rpm wurde das Sediment für die Proteinbestimmung verwahrt. Der Überstand wurde mit 0,1 ml 2 M Na_2CO_3 gemischt. Durch diesen

Schritt wurden die meisten 5'-Nukleotide zusammen mit dem entstandenen ZnCO_3 präzipitiert, während zyklisches Adenosin- und Guanosinmonophosphat großenteils unbeeinträchtigt blieben. Nach erneuter Zentrifugation wurde der Überstand mit Aqua bidest. auf 10 ml verdünnt.

Hieran schloß sich die chromatographische Auftrennung der verbliebenen Nukleotide an. Dazu wurden die Proben auf Ionenaustauschersäulen (QAE-Sephadex A 25, 2 ml) aufgebracht. Es folgten 10 ml Aqua dest. und 6 ml 0,1 M Ammoniumformiat (pH 9, mit NH_4OH eingestellt), welche verworfen wurden. Zur Gewinnung der cAMP-Fraktion dienten 6 ml 0,1 M Ammoniumformiat (pH 6, spontan). Um das Ammoniumformiat zu entfernen, wurde dieses QAE-Eluat auf SP-Sephadex C 25-Säulen (2 ml) übertragen. Nach Spülung mit 2 ml Aqua dest. wurde die gewonnene Lösung lyophilisiert (Gefriertrocknungsanlage DELTA Ia, Martin Christ, Osterode am Harz). Aus Ammoniumformiat war die leicht flüchtige Ameisensäure entstanden.

Nach der chromatographischen Darstellung folgte die eigentliche cAMP-Bestimmung mit Hilfe der kompetitiven Proteinbindungsanalyse. Hierzu diente ein handelsüblicher Reagenziensatz (Cyclic AMP Assay Kit, Code TRK. 432, Amersham-Buchler, Braunschweig).

Diesem Verfahren liegt das Prinzip der Sättigungsanalyse zu Grunde (Steiner et al., 1970, 1972; Tovey et al., 1974; Abdelhamid, 1974; Eckert, 1975). Unmarkiertes cAMP konkurriert mit der Tritium-markierten Verbindung um eine begrenzte Zahl von Bindungsstellen an Rinder-muskelprotein (Gilman, 1970). Es besteht umgekehrte Proportionalität zwischen der Menge an neu gebildetem, markiertem Eiweiß-Nukleotid-Komplex und dem Gehalt an nichtmarkiertem cAMP im Versuchsansatz. Die eiweißgebundene Radioaktivität ist eine Funktion der Nukleotidkonzentration in der unbekannten Probe.

Nach Einstellung des Reaktionsgleichgewichtes erfolgte die Abtrennung des proteingebundenen cAMP vom ungebundenen Nukleotid durch Adsorption des freien Nukleotids an Aktivkohle mit anschließender Zentrifugation (Brown et al., 1971). Die Radioaktivität des Überstandes wurde im Flüssigszintillationszähler gemessen. Hierbei fand sich eine Recovery-Quote

von 50 bis 70 %. Aus einer linearen Eichkurve ergab sich die Konzentration des unmarkierten cAMP in der Probe.

Um den Versuchsaufbau zu überprüfen, wurde in derselben Bestimmungsreihe der cAMP-Gehalt in der abgeschabten Dünndarmschleimhaut der mit Cholera-Enterotoxin in vivo behandelten Ratte gemessen (Schafer et al., 1970; Field, 1971; Hornych et al., 1973; Al-Awquati et al., 1974). Drei Tiere erhielten das Gift, während drei andere als Kontrollen dienten. Das Toxin (Cholera Enterotoxin, Cat.-Nr. 8560 900593, Schwarz/Mann, Orangeburg, New York) wurde der intestinalen Mukosa als isotonische Lösung mit 6 µg Trockensubstanz pro ml angeboten. Nach Kanülierung und Spülung der abgebundenen, ca. 20 cm langen Ileumschlinge wurden 2 ml der entsprechenden Lösung instilliert. Die cAMP-Bestimmung erfolgte nach sechsstündiger Inkubation in der o. a. Weise.

Zur Bestimmung des Proteingehaltes der Präparationen diente das von Lowry et al. (1951) angegebene Verfahren. Als Vergleichssubstanz wurde Rinderalbumin benutzt.

Statistische Auswertung

Die Ergebnisse sind als arithmetische Mittel ($\bar{x}$) mit zugehörigen Standardabweichungen (s) angegeben. Sie wurden mit dem Student's t-Test für unverbundene Stichproben auf dem 5 %-Niveau verglichen.

Die Testergebnisse wurden nicht nach der Methode von Bonferroni korrigiert und sind also nur als Hinweise auf vorhandene Unterschiede zu verstehen.

III. E R G E B N I S S E

Wasser- und Elektrolytbewegung

Furosemid führt konzentrationsabhängig zu einer gleichförmigen Hemmung der Nettoabsorption von Natrium, Chlorid und Wasser. Nach einer mukosal angebotenen Dosis von 10^{-4} M/l blieben die intestinalen Transportprozesse innerhalb der Versuchsdauer von zwei Stunden unbeeinträchtigt. Bei 5×10^{-3} M/l betrug im Vergleich mit der Kontrollgruppe die Chloridabsorption nur noch 59 %, die von Natrium 51 % und von Wasser 47 %. Der maximale Effekt der Absorptionseinschränkung war für Natrium und Chlorid bei 2×10^{-2} M/l, für Wasser bei 10^{-2} erreicht (Abb. 3).

Aus Tabelle 2 sind die Absolutwerte dieser Dosis-Wirkungs-Beziehung zu ersehen; Abbildung 4 stellt den Zusammenhang am Beispiel der Natriumbewegung graphisch dar.

Der unter Kontrollbedingungen nach zweistündiger Inkubation auf der Serosaseite beobachtete Anstieg der Elektrolytkonzentration wurde nach Zugabe von Furosemid dosisabhängig vermindert. Parallel hierzu änderte sich die Osmolalität in der serosalen Flüssigkeit (Abb. 5).

In zwei Versuchsreihen wurde Furosemid auch auf der serosalen Seite des Kolonpräparates appliziert. Dabei zeigte sich, verglichen auf molarer Basis, eine geringere Beeinflussung des intestinalen Wasser- und Elektrolyttransportes gegenüber mukosalem Angebot (Tab. 3).

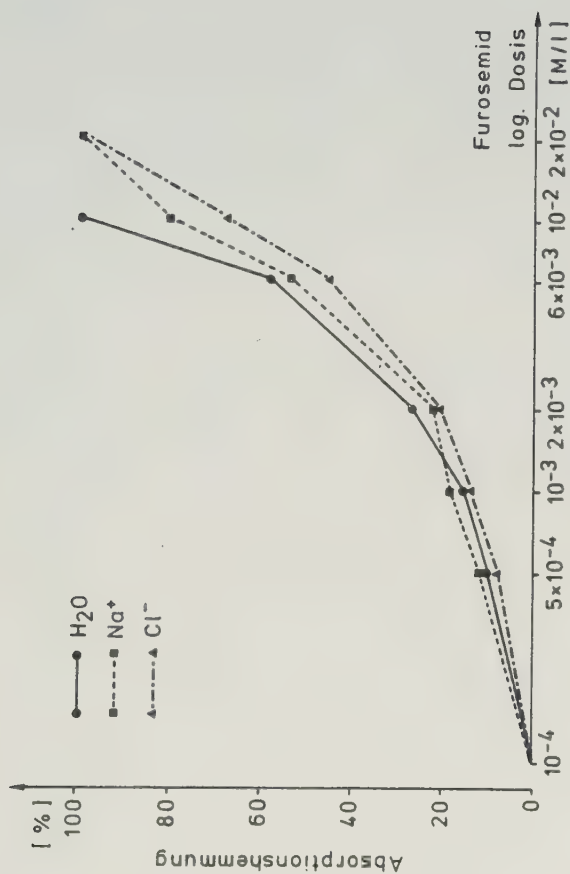


Abb. 3: Hemmung der Nettoabsorptionsrate in Prozent vom Kontrollfall bei Applikation von Furosemid auf der Mukosaseite (aufgetragen sind die Mittelwerte von Mehrfachbestimmungen, $n = 6 - 9$; auf eine Angabe der Standardabweichung wurde der Übersichtlichkeit wegen verzichtet)

Tabelle 2: Der Einfluß von Furosemid (F) auf den Nettotransfer von Elektrolyten und Wasser (die Konzentrationangaben beziehen sich auf die mukosale Seite zu Versuchsbeginn; * bedeutet statistisch signifikanten Mittelwertsunterschied auf dem 5 %-Niveau; n ist die Anzahl der Versuchstiere)

	$J_{Na}^{net} / t \times d.w.$ $\bar{x} \pm s$	$J_{Cl}^{net} / t \times d.w.$ $\bar{x} \pm s$	$J_{H_2O}^{net} / t \times d.w.$ $\bar{x} \pm s$	n
Kontrolle F ($10^{-4}M$)	1364 $\pm$ 216 1532 $\pm$ 522	1405 $\pm$ 245 1488 $\pm$ 557	7,32 $\pm$ 1,96 8,73 $\pm$ 3,28	(7) (7)
Kontrolle F ($5 \times 10^{-4}M$)	1827 $\pm$ 192 1611 $\pm$ 311	1761 $\pm$ 213 1616 $\pm$ 358	11,20 $\pm$ 1,12* 10,01 $\pm$ 1,10	(9) (8)
Kontrolle F ($10^{-3}M$)	1748 $\pm$ 305* 1425 $\pm$ 177	1514 $\pm$ 316 1301 $\pm$ 218	10,44 $\pm$ 1,53* 8,77 $\pm$ 0,58	(6) (7)
Kontrolle F ($2 \times 10^{-3}M$)	1395 $\pm$ 371* 1080 $\pm$ 143	1601 $\pm$ 393* 1270 $\pm$ 193	9,17 $\pm$ 2,62* 6,64 $\pm$ 1,12	(8) (9)
Kontrolle F ($6 \times 10^{-3}M$)	1313 $\pm$ 450* 608 $\pm$ 137	1228 $\pm$ 397* 671 $\pm$ 132	8,57 $\pm$ 3,07* 3,52 $\pm$ 2,09	(9) (6)
Kontrolle F ($10^{-2}M$)	1476 $\pm$ 309* 283 $\pm$ 137	1145 $\pm$ 240* 369 $\pm$ 418	3,55 $\pm$ 1,29* -2,27 $\pm$ 0,77	(8) (6)
Kontrolle F ($2 \times 10^{-2}M$)	1421 $\pm$ 384* -451 $\pm$ 127	1131 $\pm$ 407* -62 $\pm$ 125	4,43 $\pm$ 2,20 -3,95 $\pm$ 0,73	(7) (7)

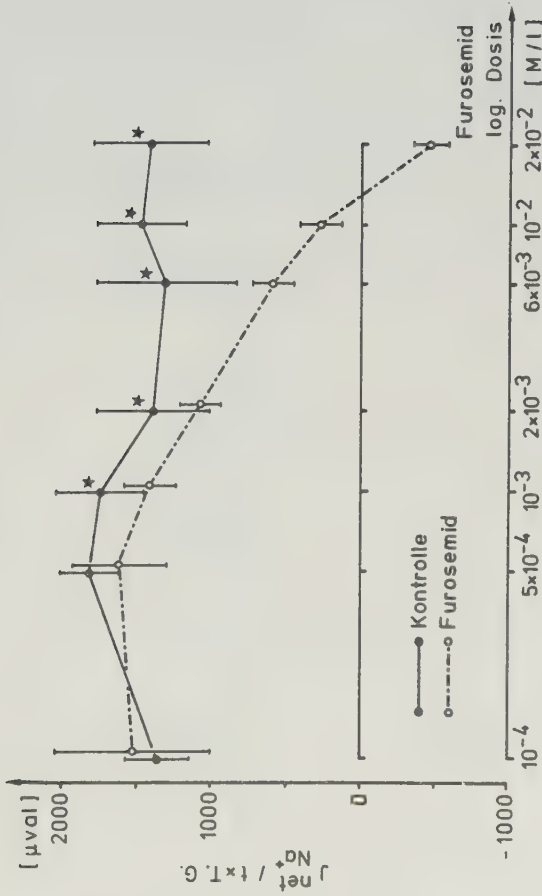


Abb. 4: Nettoabsorptionsrate von Natrium (aufgetragen sind die Durchschnittswerte mit zugehörigen Standardabweichungen unter dem Einfluß von Furosemid bei mukosaler Applikation versus Kontrolle; $n = 6 - 9$; * bedeutet statistisch signifikanten Mittelwertsunterschied auf dem 5 %-Niveau)

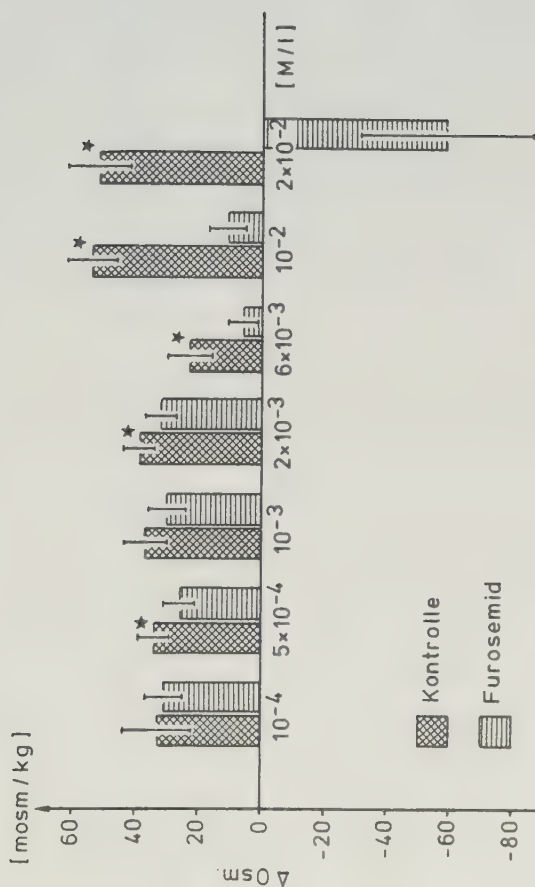


Abb. 5: Die Änderung der Osmolalität auf der Serosasseite bei mukosaler Furosemid-Applikation vs. Kontrolle
(aufgetragen sind $\bar{x} \pm s$; $n = 6 - 9$; * bedeutet statistisch gesicherten Mittelwertsunterschied auf dem 5 %-Niveau)

Tabelle 3: Der Einfluß von Furosemid (F) auf den Nettotransfer von Elektrolyten und Wasser
 (die Konzentrationsangaben beziehen sich auf die serosale Seite zu Versuchsbeginn;
 *bedeutet statistisch gesicherten Mittelwertsunterschied auf dem 5 %-Niveau; n ist
 die Anzahl der Versuchstiere)

	$J_{Na}^{net} / t \times d.w.$ $\bar{x} \pm s$	$J_{Cl}^{net} / t \times d.w.$ $\bar{x} \pm s$	$J_{H_2O}^{net} / t \times d.w.$ $\bar{x} \pm s$	n
Kontrolle	1532 $\pm$ 368	1260 $\pm$ 363	7,71 $\pm$ 2,03	(9)
F (10^{-3} M)	1186 $\pm$ 328	961 $\pm$ 605	5,70 $\pm$ 1,95	(8)
Kontrolle	2503 $\pm$ 736*	2437 $\pm$ 711*	13,20 $\pm$ 4,61*	(6)
F (6×10^{-3} M)	1442 $\pm$ 334	1528 $\pm$ 353	8,14 $\pm$ 2,13	(7)

Adenosintriphosphatase

Die Enzymaktivitäten der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -aktivierbaren Adenosintriphosphatase wurden nach zweistündiger Inkubation im Schleimhautgewebe bestimmt. Furosemid wurde in einer Konzentration von 5×10^{-3} M/l, bei der in den vorhergehenden Versuchen die Wasser- und Elektrolytbewegung zu 50 % eingeschränkt waren, auf der mukosalen Seite der Versuchsanordnung angeboten. Im Kontrollversuch ($n = 10$) fand sich mit $1,83 \pm 0,54 \mu\text{M}$ Phosphat pro mg Protein im Vergleich zu mit Furosemid behandelten Präparationen ($1,91 \pm 0,45 \mu\text{M}$ Phosphat pro mg Protein; $n = 10$) kein Unterschied (Abb. 6).

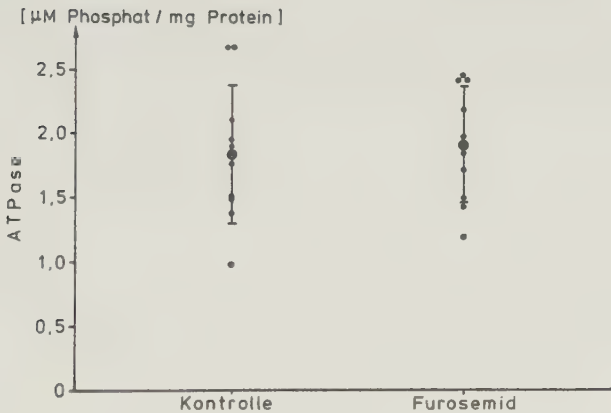


Abb. 6: Adenosintriphosphatase
(aufgetragen sind $\bar{x} \pm s$ mit den zugehörigen Einzelwerten)

Zyklisches Adenosinmonophosphat

Der Einfluß von Furosemid auf den Nukleotidgehalt der Mukosa wurde bei der gleichen Konzentration untersucht. Auch hier waren die Werte mit $4,99 \pm 1,82$ pM cAMP pro mg Protein ($n = 11$) in der Kontrollgruppe gegenüber $5,26 \pm 1,94$ pM pro mg Protein ($n = 12$) in der Substratgruppe nicht signifikant verschieden (Abb. 7).

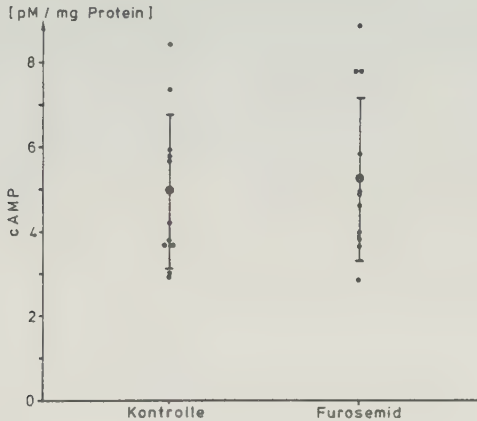


Abb. 7: Zyklisches Adenosinmonophosphat
(aufgetragen sind $\bar{x} \pm s$ mit den zugehörigen Einzelwerten)

Bei den mit Choleratoxin behandelten Dünndarmpräparationen kam es erwartungsgemäß zu einem Anstieg des cAMP-Gehaltes (Tab. 4).

Tabelle 4:

	cAMP (pM/mg Protein) $\bar{x} \pm s$	n
Kontrolle	$4,95 \pm 2,44$	3
Cholera-Enterotoxin	$18,28 \pm 1,77$	3

IV. D I S K U S S I O N

Furosemid hemmt dosisabhängig die Nettoabsorption von Chlorid, Natrium und Wasser an der isolierten Dickdarmschleimhaut der Ratte. Der halbmaximale Effekt ist bei einer Konzentration von 5×10^{-3} M/l erreicht. Hierbei stimmen die unter Kontrollbedingungen gemessenen Transportraten für Wasser und Elektrolyte weitgehend mit den Werten von Parsons und Paterson (1965) überein, während Yau und Makhlof (1975) höhere Angaben machen.

Appliziert man das Diuretikum auf der serosalen Seite der Versuchsanordnung, so ist die Absorptionseinschränkung gegenüber mukosalem Substratangebot weniger ausgeprägt. Nach den vorliegenden Ergebnissen bleibt es unbeantwortet, ob dieser Effekt durch direkte Beeinflussung der serosalen Zellwand oder erst nach (aktivem oder passivem) Transport der Substanz auf die Mukosaseite erreicht wird.

Es ist anzumerken, daß im allgemeinen unter in vitro-Bedingungen eine Beeinflussung von Transferprozessen deutlicher zum Nachweis kommt wie am in vivo-Modell. Hauptverantwortlich dafür scheint die fehlende Mesenterialvenendrainage zu sein (Caspary, 1975). Ein weiterer Gesichtspunkt ist die Abwesenheit des Filtrationsdruckes auf der serosalen Seite, welcher im Reagenzglasversuch den Nachweis eines sekretorischen Effektes verhindert (Rummel et al., 1975).

Der molekulare Wirkungsmechanismus ist bis heute nicht bekannt. Es gibt Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen aktivem Elektrolyttransport durch biologische Membranen und einer Adenosintriphosphatase (Katz u. Epstein, 1968). Skou beschrieb 1957 ein solches Enzymsystem im peripheren Nerven des Krebses, welches die Umsetzung von Adenosintriphosphat

zu Adenosindiphosphat und anorganischem Phosphor katalysiert. Dieses benötigt zur größtmöglichen Aktivität die Anwesenheit von Natrium und Kalium. Ein weiteres Charakteristikum ist seine Hemmbarkeit durch Digitalisglykoside.

Die Bedeutung einer Adenosintriphosphatase für den aktiven Natriumtransport durch Zellmembranen und Epithelzellschichten wird von anderen Autoren unterstrichen (Ebel et al., 1972; Loeschke et al., 1974). Zur Frage nach dem Zusammenhang zwischen diuretischer Wirkung und Hemmung einer Adenosintriphosphatase gibt es jedoch widersprüchliche Angaben. So fanden Hook und Williamson (1965) bei der Ratte nach Gabe von Furosemid in vivo eine signifikante natriuretische Wirkung in Verbindung mit einer Hemmung der mikrosomalen NaK-ATPase. Schmidt und Dubach (1970) zeigten bei der gleichen Spezies, daß der Furosemid-Effekt gegen eine NaK-ATPase im aufsteigenden Schenkel der Henleschen Schleife gerichtet ist. Hier sind auch die höchsten Enzymaktivitäten an der Niere nachweisbar (Katz et al., 1979). Demgegenüber gelang es Ebel und Mitarbeitern (1972) nicht, eine Änderung der NaK-ATPase-Aktivität in Präparationen von Plasmamembranen oder Bürstensaummembranen bei mit Furosemid behandelten Ratten aufzuzeigen.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Enzymaktivität in der Dickdarmschleimhaut der Ratte durch 5×10^{-3} M Furosemid nicht beeinflusst. Mit diesem Befund stimmen die Ergebnisse von Robinson und Förster (1968) überein. Dabei lagen die Kontrollwerte der Enzymaktivität in der von Loeschke und Mitarbeitern (1974) für das Caecum der Ratte angegebenen Größenordnung.

Hieraus kann man folgern, daß ein möglicher Zusammenhang zwischen Enzymaktivität und Ionentransport nicht unbedingt die Identität zwischen NaK-ATPase und Ionenpumpe bedeuten

muß (Katz u. Epstein, 1968). Weitere widersprüchliche Ergebnisse legen nahe, daß die NaK-ATPase, wenn überhaupt, nicht nur als diuretischer Rezeptor fungiert (Ebel, 1974).

In der Frage nach dem molekularen Wirkungsmechanismus diskutiert man auch das zyklische Adenosin-3',5'-monophosphat (cAMP). Diese Substanz wurde bei der Erforschung des glykogenolytischen Effektes von Adrenalin und Glukagon in der Leber entdeckt (Rall et al., 1957).

Seit Sutherland ist es allgemein anerkannt, daß das cAMP wie auch die übrigen zyklischen Nukleotide Schlüsselsubstanzen bei der Wirkung von Hormonen, Enzymen und anderen biologisch aktiven Stoffen sind (Robison et al., 1968). Zwischen den zellulären Rezeptoren verschiedener Hormone und der Adenylzyklase, welche die Bildung dieser Schlüsselsubstanzen katalysiert, besteht ein spezifischer Zusammenhang. Das Hormon verändert ein Rezeptorprotein derart, daß die Adenylzyklase allosterisch aktiviert wird und ATP in cAMP umwandelt (Karlson, 1974). Zyklisches Adenosinmonophosphat, von Sutherland "second messenger" genannt, beeinflußt dann verschiedene intrazelluläre Prozesse. Es kann Enzyme aktivieren oder auch unmittelbar die Zellpermeabilität steigern und wird in der Zelle durch eine Phosphodiesterase rasch zu inaktivem 5'-cAMP aufgespalten (Abb. 8).

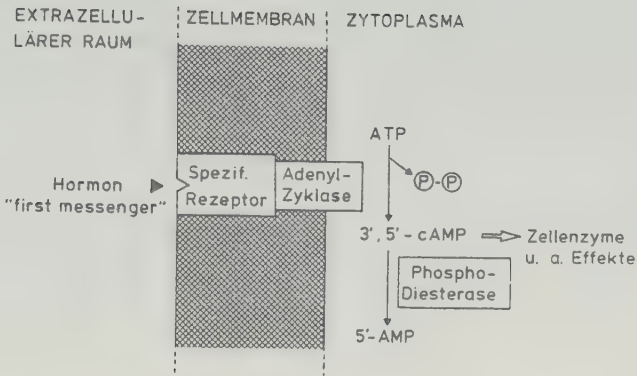


Abb. 8: Zyklo-AMP als "second messenger"
(modifiziert nach Buddecke, 1974)

Indessen ist eine Mitwirkung des Adenylzyklase-Systems bei der Kontrolle des Elektrolyt- und Wassertransportes, wie sie von einigen Autoren postuliert wird (Ebel, 1974; Fülgraff u. Meiforth, 1974; Ferguson u. Twite, 1974, 1975), nicht gesichert. So wies die Arbeitsgruppe um Ebel (1973) bei der Ratte unter dem Einfluß von 10^{-3} M Furosemid eine 30 %ige Hemmung der renalen Adenylzyklase in Rinde und Mark nach. Die kortikale und die medulläre Adenylzyklase-Aktivität wurden nach einer Arbeit von Jakobs und Mitarbeitern (1972) durch 2×10^{-4} M Furosemid nur unwesentlich reduziert. Schultz und Senft (1967) fanden unter Furosemid eine Minderung der Phosphodiesterase-Aktivität in der Rinde von Rattennierenpräparationen.

Der Zusammenhang zwischen diuretischer Wirkung und cAMP-Spiegel wurde von Osswald und Mitarbeitern (1977) geprüft.

In ihrer Untersuchung wurde der Nukleotidgehalt durch niedrige Furosemid-Dosen, bei nachgewiesenem diuretischem Effekt, nicht verändert. Erst höhere Pharmakongaben führten zu einem cAMP-Anstieg. Nach einer gewissen Zeit waren die cAMP-Werte wieder abgesunken, während der Harnfluß weiter anhielt.

Die in dieser Versuchsreihe durchgeführte cAMP-Bestimmung an der Kolonmukosa der Ratte ergab keine Veränderung des Nukleotidgehaltes durch 5×10^{-3} M Furosemid. Hieraus ist zu folgern, daß das cAMP-Adenylzyklase-System im Mechanismus der Furosemid-induzierten Diarrhoe keine Rolle spielt.

Die untersuchten Mechanismen einer Hemmung des $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -aktivierbaren ATPase-Systems sowie einer Steigerung sekretorischer, mit einer Erhöhung von cAMP verbundener Prozesse sind damit als mögliche Wirkungsweisen der Furosemid-induzierten Diarrhoe unwahrscheinlich. Auf der anderen Seite bewirkt Furosemid am isolierten Dickdarm der Ratte eine konzentrationsabhängige Hemmung der Natrium-, Chlorid- und Wassernettoabsorption.

Mit den genannten Untersuchungen sind diese Phänomene nicht erklärt. Die Wirkungsweise ist damit weiterhin offen. Aufschlußreich dürften nunmehr Untersuchungen zur Frage der Beeinflussung der Durchlässigkeit von Membranen unter dem Einfluß von Furosemid sein.

V. Z U S A M M E N F A S S U N G

Nach Gabe hoher Dosen des Diuretikums Furosemid beobachtet man in seltenen Fällen das Auftreten von Diarrhöen.

Eine vergleichbare Funktion von tubulärem Nierensystem und Dickdarmschleimhaut ist die Kontrolle und Verhinderung systemischer Wasser- und Elektrolytverluste. Den Durchfällen könnte damit ein gleicher Wirkungsmechanismus an den genannten Strukturen zugrunde liegen.

In dieser Studie wurde die Wirkung von Furosemid auf die Nettoabsorption von Elektrolyten und Wasser an der isolierten Dickdarmschleimhaut der Ratte untersucht. Dabei fand sich dosisabhängig eine gleichförmige Hemmung der Nettoabsorption von Natrium, Chlorid und Wasser. Eine luminal angebotene Furosemid-Konzentration von 5×10^{-3} M/l bewirkte eine 50 %ige Absorptionseinschränkung.

Zur Klärung der molekularen Wirkungsweise wurden NaK-ATPase und cAMP gemessen. Über die photometrische Bestimmung von anorganischem Phosphat erfolgte die Messung der NaK-ATPase-Aktivität. Zur Ermittlung des cAMP-Gehaltes diente ein Radioimmunoassay. In einer Konzentration von 5×10^{-3} M/l hatte Furosemid keinen Einfluß auf die genannten Transportmechanismen der Schleimhaut.

Die nachgewiesene Hemmung der Nettoabsorption von Elektrolyten und Wasser erklärt die nach hohen Diuretika-Gaben auftretenden Durchfälle. In der geprüften Konzentration spielen jedoch die untersuchten Mechanismen keine Rolle. Die Wirkungsweise ist offen; Untersuchungen zur Frage der Beeinflussung der Permeabilität von Schleimhäuten durch Furosemid erscheinen aufschlußreich.

VI. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- Abdelhamid, S.:
Radioimmunoassay und seine klinische Anwendung.
Med. Welt 25, 1489 - 1492 (1974)
- Al-Awquati, Q., Field, M., Greenough, W. B. III:
Reversal of cyclic AMP-mediated intestinal secretion by
ethacrynic acid.
J. clin. Invest. 53, 687 - 692 (1974)
- Binder, H. J., Katz, L. A., Spencer, R. P. Spiro, H. M.:
The effect of inhibitors of renal transport on the small
intestine.
J. clin. Invest. 45, 1854 - 1858 (1966)
- Brown, B. L., Albano, J. D. M., Ekins, R. P., Sgherzi, A. M.:
A simple and sensitive saturation assay method for the
measurement of adenosine 3':5'-cyclic monophosphate.
Biochem. J. 121, 561 - 562 (1971)
- Buchborn, E., Anastasakis, S.:
Angriffspunkt und Wirkungsmechanismus von Furosemid am
distalen Nephron des Menschen.
Klin. Wschr. 41, 1127 - 1131 (1964)
- Buddecke, E.:
Grundriß der Biochemie.
W. de Gruyter, Berlin (1974)
- Burg, M., Stoner, L., Cardinal, J., Green, N.:
Furosemide effect on isolated perfused tubules.
Am. J. Physiol. 225, 119 - 124 (1973)
- Caspary, W. F.:
Die Beeinflussung der Resorptionsleistungen der Darm-
mukosa durch Pharmaka.
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 25, 489 - 498 (1975)
- Cooperman, L. B., Rubin, I. L.:
Toxicity of ethacrynic acid and furosemide.
American Heart Journal 85, 831 - 834 (1973)
- Deetjen, P.:
Mikropunktionsuntersuchungen zur Wirkung von Furosemid.
Pflügers Archiv 284, 184 - 190 (1965)

- Duggan, D. E., Noll, R. M.:
Effects of ethacrynic acid and cardiac glycosides upon
a membrane adenosintriphosphatase of renal cortex.
Arch. Biochem. Biophys. 109, 388 - 396 (1965)
- Ebel, H.:
Effect of diuretics on renal NaK-ATPase and adenylyl cyclase.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 281, 301 - 314 (1974)
- Ebel, H., Ehrich, J., De Santo, N. G., Doerken, U.:
Plasma membranes of the kidney.
III. Influence of diuretics on ATPase activity.
Pflügers Arch. 335, 224 - 234 (1972)
- Ebel, H., Ozer, A., Sharp, G. W. G.:
Renal adenylyl cyclase as a diuretic receptor.
Pflügers Arch. 343, Suppl., R 47 (1973)
- Eckert, H. G.:
Bestimmung biologisch aktiver Substanzen mit Radioimmunoassays.
Laborblätter 25, 56 - 62 (1975)
- Ferguson, D. R., Twite, B. R.:
Cellular mode of action of diuretics.
Scot. med. J. 19, Suppl. 1, 3 - 4 (1974)
- Ferguson, D. R., Twite, B. R.:
Furosemide - pharmacology and cellular mode of action.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 281, 295 - 300 (1974)
- Ferguson, D. R., Twite, B. R.:
The effect of diuretics on Na^+/K^+ -ATPase und cAMP levels
in toad bladder epithelial cells.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 287, 111 - 116 (1975)
- Field, M.:
Intestinal secretion: effects of cyclic AMP and its
role in cholera.
New Engl. J. Med. 284, 1137 - 1144 (1971)
- Fiske, C. H., Subbarow, Y.:
The colorimetric determination of phosphorus.
J. Biol. Chem. 66, 375 - 400 (1925)
- Forth, W., Rummel, W.:
Activation and inhibition of intestinal absorption by drugs.
In: International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics,
Section 39 B, Volume I (Pharmacology of Intestinal Absorption:
Gastrointestinal Absorption of Drugs), pp. 171 - 244
W. Forth and W. Rummel eds., Pergamon Press, Oxford (1975)

Fried, R.:

Chemische Konstitution und diuretische Wirkung bei den saluretischen Sulfonamiden.
Arzneim.-Forsch. 11, 106 - 108 (1961)

Fülgraff, G., Meiforth, A.:

Effects of cyclic nucleotide monophosphates (cAMP, cGMP, cIMP, Dibutyryl-cAMP) on transtubular net fluxes in rat kidneys.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 283, 425 - 429 (1974)

Gilman, A. G.:

A protein binding assay for adenosine 3':5'-cyclic monophosphate.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 67, 305 - 312 (1970)

Heidenreich, O.:

Ödeme.

In: Pharmakotherapie, klinische Pharmakologie,
2. A., S. 53 - 59,

Hrsg. v. G. Fülgraff u. D. Palm

G. Fischer Verlag, Stuttgart (1977)

Heidland, A., Klütsch, K., Suzuki, F.:

Nierenhämodynamik, Wasser- und Elektrolytausscheidung nach 4-Chlor-N-(2-furylmethyl)-5-sulfamoyl-anthranilsäure.

Arzneim.-Forsch. 14, 713 - 716 (1964)

Hook, J. B., Williamson, H. E.:

Lack of correlation between natriuretic activity and inhibition of renal Na-K-activated ATPase.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 120, 358 - 360 (1965)

Hornych, A., Meyer, P., Milliez, P.:

Angiotensin, vasopressin, and cyclic AMP:

effects on sodium and water fluxes in rat colon.

Am. J. Physiol. 224, 1223 - 1229 (1973)

Jacobson, E. D., Bondy, D. C., Broitman, S. A., Fordtran, J. S.:

Validity of polyethylene glycol in estimating intestinal water volume.

Gastroenterology 44, 761 - 767 (1963)

Jakobs, K. H., Schultz, K., Schultz, G.:

Hemmung von Adenyl-Cyclase-Präparationen aus der Ratten- niere durch Calciumionen und verschiedene Diuretica.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 273, 248 - 266 (1972)

Karlson, P.:

Kurzes Lehrbuch der Biochemie.

G. Thieme Verlag, Stuttgart (1974)

Katz, A. I., Doucet, A., Morel, F.:

Na-K-ATPase along rabbit, rat, and mouse nephron.
Am. J. Physiol. 237, F 114 - F 120 (1979)

Katz, A. I., Epstein, F. H.:

Physiologic role of sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase in the transport of cations across biologic membranes.

New Engl. J. Med. 278, 253 - 261 (1968)

Katz, A. I., Epstein, F. H.:

The role of sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase in the reabsorption of sodium by the kidney.

J. Clin. Invest. 46, 1999 - 2011 (1967)

Kennedy, A. C.:

Diuretics and renal failure.

Tenth Symposium on Advanced Medicine,

Royal College of Physicians of London,

pp. 380 - 387, ed. by J. J. G. Ledingham, Pitman, London (1974)

Kleinfelder, H.:

Experimentelle Untersuchungen und klinische Erfahrungen mit einem neuen Diuretikum.

Dtsch. med. Wschr. 88, 1695 - 1702 (1963)

Loeschke, K., Uhlich, E., Kinne, R.:

Stimulation of sodium transport and $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase activity in the hypertrophied rat cecum.

Pflügers Arch. 346, 233 - 249 (1974)

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J.:

Protein measurement with the Folin phenol reagent.

J. Biol. Chem. 193, 265 - 275 (1951)

MacKenzie, J. F., Cochran, K. M., Russell, R. I.:

The effect of frusemide on water and electrolyte absorption from the human jejunum.

Clin. Sci. Mol. Med. 49, 519 - 521 (1975)

Malnic, G., Vieira, F. L., Enokibara, H.:

Effect of 'furosemid' on chloride and water excretion in single nephrons of the kidney of the rat.

Nature 208, 80 - 81 (1965)

Molina, G., Gonzales, J. O., Orozco, J. G.:

Antidiuretisches Hormon und Furosemid im Natriumtransport.

Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 22, 601 - 603 (1972)

Morgan, T., Tadokoro, M., Martin, D., Berliner, R. W.:
Effect of furosemide on Na^+ and K^+ transport
studied by microperfusion of the rat nephron.
Am. J. Physiol. 218, 292 - 297 (1970)

Mudge, G. H.:
Diuretics and other agents employed in
the mobilization of edema fluid.
In: The Pharmacological Basis of Therapeutics,
5th ed., pp. 817 - 847,
L. S. Goodman and A. Gilman eds.,
MacMillan, New York (1975)

Nechay, B. R., Nelson, J. A.:
Renal ouabain-sensitive adenosine triphosphatase
activity and Na^+ reabsorption.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 175, 717 - 726 (1970)

Osswald, H., Hawlina, A., Clasen, U., Heidenreich, O.:
Tissue levels of cyclic nucleotides in the rat kidney
after administration of furosemide.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 299, 273 - 275 (1977)

Parsons, D. S., Paterson, C. R.:
Fluid and solute transport across rat colonic mucosa.
Quart. J. Exp. Physiol. 50, 220 - 231 (1965)

Parsons, D. S., Paterson, C. R.:
Movements of fluid and glucose in an everted sac
preparation of rat colonic mucosa.
Biochim. Biophys. Acta 41, 173 - 175 (1960)

Rall, T. W., Sutherland, E. W., Berthet, J.:
The relationship of epinephrine and glucagon
to liver phosphorylase.
IV. Effect of epinephrine and glucagon on the reactivation
of phosphorylase in liver homogenates.
J. Biol. Chem. 224, 463 - 475 (1957)

Robinson, J. W. L., Förster, H.:
Effect of ethacrynic acid and furosemide on the transport
systems of the rat intestine.
Naturwissenschaften 55, 232 - 233 (1968)

Robison, G. A., Butcher, R. W., Sutherland, E. W.:
Cyclic AMP.
Ann. Rev. Biochem. 37, 149 - 174 (1968)

Rummel, W., Nell, G., Wanitschke, R.:

Action mechanisms of antiabsorptive and hydragogue drugs.

In: Intestinal Absorption and Malabsorption,
pp. 209 - 227, T. Z. Csáky ed., Raven Press, New York (1975)

Schafer, D. E., Lust, W. D., Sircar, B., Goldberg, N. D.:
Elevated concentration of adenosine 3':5'-cyclic mono-
phosphate in intestinal mucosa after treatment with
cholera toxin.

Proc. N. A. S. 67, 851 - 856 (1970)

Schmidt, U., Dubach, U. C.:

The behaviour of Na K -activated adenosine triphosphatase
in various structures of the rat nephron after furosemide
application.

Nephron 7, 447 - 458 (1970)

Schultz, G., Böhme, E., Hardman, J. G.:

Separation and purification of cyclic nucleotides by
ion-exchange resin column chromatography.

In: Methods in Enzymology, Vol. XXXVIII, Hormone Action
(Part C: Cyclic Nucleotides), pp. 9 - 20, J. G. Hardman
and B. W. O'Malley eds., Acad. Press, New York (1974)

Schultz, G., Hardman, J. G., Schultz, K., Davis, J. W.:
A new enzymatic assay for guanosine 3':5'-cyclic mono-
phosphate and its application to the ductus deferens of
the rat.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70, 1721 - 1725 (1973)

Schultz, G., Senft, G.:

Der Einfluß von Diuretica auf die 3', 5'-AMP-Phosphodiesterase.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 257, 61 - 62 (1967)

Sedmak, J. J., Grossberg, S. E.:

A rapid, sensitive, and versatile assay for protein using
Coomassie brilliant blue G 250.

Anal. Biochem. 79, 544 - 552 (1977)

Shields, R., Harris, J., Davies, M. W.:

Suitability of polyethylene glycol as a dilution
indicator in the human colon.

Gastroenterology 54, 331 - 333 (1968)

Steiner, A. L., Pagliari, A. S., Chase, L. R., Kipnis, D. M.:
Radioimmunoassay for cyclic nucleotides.

II. Adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-mono-
phosphate in mammalian tissues and body fluids.

J. Biol. Chem. 247, 1114 - 1120 (1972)

- Steiner, A. L., Parker, C. W., Kipnis, D. M.:
The measurement of cyclic nucleotides by radioimmunoassay.
Adv. Biochem. Psychopharmacol. 3, 89 - 111 (1970)
- Skou, J. C.:
Influence of some cations on an ATPase from peripheral nerves.
Biochim. Biophys. Acta 23, 394 - 401 (1957)
- Sturm, K., Siedel, W., Weyer, R., Ruschig, H.:
Zur Chemie des Furosemids, Synthesen von 5-Sulfamoyl-anthranilsäure-Derivaten.
Chem. Ber. 99, 328 - 344 (1966)
- Sutherland, E. W., Robison, G. A., Butcher, R. W.:
Some aspects of the biological role of adenosine 3',5'-monophosphate (cyclic AMP).
Circulation 37, 279 - 306 (1968)
- Suzuki, F., Klütsch, K., Heidland, A.:
Stop-flow-Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Furosemid.
Klin. Wschr. 42, 569 - 571 (1964)
- Tovey, K. C., Oldham, K. G., Whelan, J. A. M.:
A simple direct assay for cyclic AMP in plasma and other biological samples using an improved competitive protein binding technique.
Clin. Chim. Acta 56, 221 - 234 (1974)
- Wanitschke, R., Nell, G., Brück, H.:
Influence of mersalyl and neptazane on fluid and electrolyte transport in rat colon in vitro.
In preparation
- Wanitschke, R., Nell, G., Rummel, W.:
Influence of hydrostatic pressure gradients on net transfer of sodium and water across isolated rat colonic mucosa.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 297, 191 - 194 (1977)
- Williamson, H. E.:
Furosemide and ethacrynic acid.
J. clin. Pharmacol. 17, 663 - 672 (1977)
- Wingate, D. L., Sandberg, R. J., Phillips, S. F.:
A comparison of stable and ^{14}C -labelled polyethylene glycol as volume indicators in the human jejunum.
Gut 13, 812 - 815 (1972)
- Yau, W. M., Makhoul, G. M.:
Comparison of transport mechanisms in isolated ascending and descending rat colon.
Am. J. Physiol. 228, 191 - 195 (1975)

Ich danke Herrn Professor Dr. R. Wanitschke für die Überlassung des Themas sowie die Betreuung bei der Arbeit, ferner für die Unterstützung bei zahlreichen Fragen Herrn Professor Dr. K. Ewe, Herrn Professor Dr. W. Rummel, Herrn Dr. K.-J. Goerg und Frau Dipl.-Math. M. Budenz.

Lebenslauf

Ich wurde am 19. November 1953 in Nastätten/Taunus als zweites Kind des Justizamtsrates Jakob Schmitz und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Steeg, geboren und bin katholischer Konfession.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Grundschule meiner Heimatstadt, in den beiden folgenden Jahren die Staatl. Realschule Nastätten und trat am 19.04.1966 in das Staatl. Neusprachliche und Mathematisch-Naturwissenschaftliche Gymnasium in St. Goarshausen ein. Hier erwarb ich am 24. Mai 1972 das Reifezeugnis.

Einen Monat später wurde ich zum Grundwehrdienst einberufen. Diesen habe ich als Sanitäter abgeleistet.

Im April 1974 begann ich meine medizinische Ausbildung an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Den praktischen Ausbildungsabschnitt durchlief ich am Lehrkrankenhaus Kemperhof/Koblenz mit Wahlfach Pädiatrie. Nach einem zwölfsemestrigen Studium legte ich im Frühjahr 1980 das Staatsexamen ab.

Zur Zeit bin ich an der Röntgenabteilung des Herz-Jesu-Krankenhauses in Dernbach tätig.

Jörg Schmitz
Stielstraße 2

5428 Nastätten



